

· 论著 ·

黄芪散对肥胖模型大鼠胫骨骨结构的研究

王芳¹ 陈琚² 曾煦欣³ 陈艳芬¹ 李卫民^{4*}

1.广东药科大学中药学院,广东 广州 510006

2.广东药科大学生命科学与生物制药学院,广东 广州 510006

3.佛山科学技术学院口腔医学院(医药工程学院),广东 佛山 528000

4.广州中医药大学中药学院,广东 广州 510006

中图分类号: R336;R-332 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2019) 05-0632-06

摘要: **目的** 观察黄芪散对肥胖模型大鼠胫骨上段松质骨和中段皮质骨的影响。**方法** 180~200 g 雄性 SD 大鼠,实验分为正常组、高脂模型组、立普妥组(2 mg/kg)、黄芪散低剂量组(1.2 g/kg, 10 mL/kg)、黄芪散高剂量组(2.4 g/kg, 10 mL/kg);通过高脂饲料喂养诱导肥胖模型 7 周,造模成功后开始给药,持续给药 15 周,处死大鼠,对胫骨松质骨和皮质骨进行骨组织形态计量学考察。**结果** 与正常对照组相比,模型组胫骨松质骨小梁面积百分数(Tb.Ar%)、骨小梁宽度(Tb.Th)显著减少;胫骨中段皮质骨面积百分数(Ct.Ar%)明显增加,骨髓腔面积百分数(Ma.Ar%)明显减小,骨外膜面骨形成率(P-BFR/BS)降低。与模型组相比,黄芪散使胫骨上段的 Tb.Ar%、Tb.Th、Tb.N 均增加;新骨年形成率(BFR/BV)和中段骨 Ma.Ar%明显减少,P-BFR/BS 显著增加。**结论** 肥胖可致模型大鼠胫骨松质骨结构发生明显变化,呈现骨质疏松状态;皮质骨骨量增加。黄芪散可抑制肥胖引起大鼠胫骨松质骨的骨丢失,可维持肥胖引起大鼠胫骨皮质骨的促生长作用。其机制可能与抑制骨吸收有关。黄芪散对皮质骨无明显作用。

关键词: 黄芪散;肥胖;骨组织形态计量学;胫骨;大鼠;动物实验

The effect of astragalus powder on the tibia structure in obesity rats

WANG Fang¹, CHEN Jun², ZENG Xuxin³, CHEN Yanfen, LI Weimin^{4*}

1.School of Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006

2.School of Chinese Pharmaceutical Science, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006

3.School of Stomatology, Foshan University of Science and Technology(School of Medical Engineering), Foshan 528000

4.School of Chinese Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China

* Corresponding author: LI Weimin, Email: liweimin@gzucm.edu.cn

Abstract: Objective To observe the effect of astragalus powder (HQS) on the cancellous bone and cortical bone of the tibia in obese rats. **Methods** Male SD rats (180–200 g) were divided into normal group, high fat model group, Lipitor group (2 mg/kg), low-dose HQS group (1.2 g/kg, 10 mL/kg), and high-dose HQS group (2.4 g/kg, 10 mL/kg). Obesity model was established by high fat diet for 7 weeks. HQS was administrated after the modelling for 15 weeks and the rats were then sacrificed. Histomorphometric study of the cancellous bone and cortical bone of the tibia was performed. **Results** Compared with those in the normal control group, the percentage of trabecular area (Tb.Ar%) and bone trabecular width (Tb.Th) of the tibial cancellous bone in the model group decreased significantly, the percentage of cortical area in the middle section of the tibia (Ct.Ar%) increased significantly, and the percentage of bone marrow cavity area (Ma.Ar%) and the rate of bone formation of the outer membrane (P-BFR/BS) decreased. Compared with those in the model group, Tb.Ar%, Tb.Th, and Tb.N of the upper segment of the tibia in HQS group increased, the annual formation rate of the new bone (BFR/BV) and Ma.Ar (%) of the middle segment decreased significantly, and P-BFR/BS increased significantly. **Conclusion** Obesity causes obvious changes in the structure of the tibial cancellous bone in the model rats, showing osteoporosis and increased cortical bone volume. HQS inhibits bone loss of the tibia cancellous bone caused by obesity, and maintains the promoting effect of obesity on the tibial cortical bone of rats. The mechanism

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81473439);广东药科大学“创新强校工程资助项目”(2016KQNCX087)

* 通信作者: 李卫民, Email: liweimin@gzucm.edu.cn

may be related to the inhibition of bone resorption, but has no obvious effect on cortical bone.

Key words: astragalus powder; obesity; bone histomorphometry; tibia; rats; animal experiments

对非肥胖个体和肥胖个体骨折发生率的研究表明,由体质指数(body mass index, BMI)定义的肥胖对机体的影响是矛盾复杂的,有时肥胖会表现出增加某些部位骨折发生的风险,有时对机体又表现出保护作用^[1]。黄芪散是收录在《圣济总录》中治疗消渴病的传统制剂,含3种中药材,分别为黄芪[Astragalus membranaceus (Fisch) Bunge]、葛根[Pueraria lobata (Willd.) Ohwi]、桑白皮(Morus alba L)。前期研究已证实其有降低体脂、体质量的作用,并对糖尿病性骨质疏松有一定预防作用^[2]。但对肥胖模型动物胫骨骨结构生长的影响尚待进一步研究。骨组织形态计量学是一个对骨微观结构、骨重建和骨代谢情况进行定量评价的研究方法,可帮助了解药物对骨的药理作用及产生影响的机制。本次实验采用高脂饮食诱导肥胖模型,用骨组织形态计量学方法考察黄芪散对肥胖状态下胫骨生长的影响,为进一步探讨黄芪散对体内脂骨代谢的调节作用铺垫基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF级健康SD大鼠,180~200 g,7周龄,雄性,由广州中医药大学实验动物中心提供,动物生产许可证号SYXK 2012-0125。共50只。大鼠饲养于SPF级动物室,喂饲全价颗粒饲料。饲养条件:每12 h明暗循环,温度21℃~23℃,湿度为50%~80%。

1.2 药品与试剂

黄芪、葛根、桑白皮药材均购自广州中医药大学大药房有限公司(批号160115);黄芪散浸膏由广州中医药大学科技园制备,每1 g相当于生药1.71 g,密度1.22(50℃)。甲基丙烯酸甲酯(成都市科龙化工试剂厂,批号2015122201);邻苯二甲酸二丁酯(成都市科龙化工试剂厂,批号20130215);过氧化苯甲酰(天津市大茂化学试剂厂,批号20160321);无水氯化钙(成都市科龙化工试剂厂,批号2014082201);氢氧化钠(广东光华科技股份有限公司,20130123);Toluidine Blue(Sigma Chemical Co., USA, Pcode: 101745482); Hematoxylin (Sigma Chemical Co., USA, Pcode: 1000936724); Ponceau Xylidine (Sigma Chemical Co., USA, Pcode: 1001223780); Acid Fuchsin (Sigma Chemical Co.,

USA, Pcode: 1001259386); Phosphotungstic acid hydrate (Sigma Chemical Co., USA, Pcode: 1001181095); Orange G (Sigma Chemical Co., USA, Pcode: 1001253540); Light Green SF Yellowish (Sigma Chemical Co., USA, Pcode: 1001127925); 2-Methyloxethyl acetate(纤溶剂)(Sigma Chemical Co., USA, Pcode: 1001067000);高脂饲料购自于广东省医学实验动物中心,包括20%蔗糖、1.2%胆固醇、20%猪油、10%酪蛋白、0.6%磷酸氢钙、0.4%石粉和47.8%基础饲料(NO.D12492, SXCK 2013-0002)。

1.3 仪器

AE240电子天平(梅特勒-托利多仪器公司上海分公司);XSZ-0800生物显微镜(广西梧州市光学仪器厂);游标卡尺(湛江市量具刃具厂);电热恒温电烤箱(上海跃进医疗器械厂);炭化钨钢刀(德国LEICA);LEICA2155硬组织切片机(德国LEICA);低速锯(Buehler LTD.USA);JB-2型恒温磁力搅拌器(上海雷磁仪器厂新泾分厂);Y-FL型荧光显微镜(日本Nikon);YM-III型石膏打磨机(西北医疗仪器集团有限公司);DHG-9097型电热恒温鼓风干燥箱(上海医用恒温设备厂);光镜和荧光显微镜(日本Nikon);数字化板(SummaSketchRIplus);LEICA MP30荧光显微镜及显微照相机(德国LEICA);LEICA QWN半自动图象分析仪(德国LEICA)。

1.4 方法

1.4.1 肥胖模型大鼠的制备,动物分组及给药:取7周龄SD大鼠50只,适应1周后,随机均分为5组:正常组、高脂模型组、阳性对照组(立普妥)、黄芪散低剂量组、黄芪散高剂量组。正常组喂基础饲料,其余组喂高脂饲料,高脂饲料持续喂养7周以形成肥胖模型。药物组从第8周开始灌胃给药,持续给药15周。黄芪散低剂量组剂量为1.2 g/(10 mL·kg),高剂量组剂量为2.4 g/(10 mL·kg),均混悬于10 mL 0.5%阿拉伯胶树胶中;按剂量灌胃给药。立普妥组剂量为2 mg/kg Lipitor®。体重每两周监测一次。

1.4.2 样本取材方法:每只大鼠处死前第14、13天和第4、3天(处死当天为第0天倒推)分别皮下注射钙黄绿素5 mg/kg,进行荧光标记,骨表面形成绿色双荧光标志,可反映骨骼动态变化情况。实验结束前1天禁食。次日处死大鼠,分离左侧胫骨上段

松质骨(proximal tibia metaphyses, PTM)及中段皮质骨(tibial cortex, TX), 备做不脱钙骨切片, 行骨形态计量学分析。

1.4.3 骨组织形态计量学的测定:按文献[3]操作。

1.5 统计学处理

所有数据用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析, 结果用平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 运用多个样本均数间的多重比较, *LSD-t*法与 *S-N-K-t*检验两组间的变量差异, $P<0.05$ 认为差异有统计学意义, $P<0.01$ 认为差异有显著统计学意义。

2 结果

2.1 黄芪散对模型大鼠胫骨上段松质骨静态参数

表1 各组大鼠胫骨上段松质骨静态学参数的测定结果($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 1 Effect of HQS on static histomorphometric parameters of PTM in each group($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	骨小梁面积百分数/%	骨小梁宽度/ μm	骨小梁数目/ mm^{-1}	分离度/ μm
正常组	17.089 $\pm$ 2.740	61.614 $\pm$ 12.182	2.923 $\pm$ 0.390	301.498 $\pm$ 99.942
肥胖模型组	12.031 $\pm$ 2.631 [*]	47.433 $\pm$ 8.925 [*]	2.593 $\pm$ 0.343	343.956 $\pm$ 51.630
立普妥组	14.330 $\pm$ 3.457	50.944 $\pm$ 4.787	2.356 $\pm$ 0.564	382.559 $\pm$ 92.973
黄芪散低剂量组	17.321 $\pm$ 2.585 [#]	57.898 $\pm$ 4.278	2.995 $\pm$ 0.409	281.561 $\pm$ 47.310
黄芪散高剂量组	19.862 $\pm$ 2.258 ^{##}	64.009 $\pm$ 7.260 [#]	3.127 $\pm$ 0.416	260.760 $\pm$ 41.594

注:与正常组比较, ^{*} $P<0.05$;与模型组比较, [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$ 。

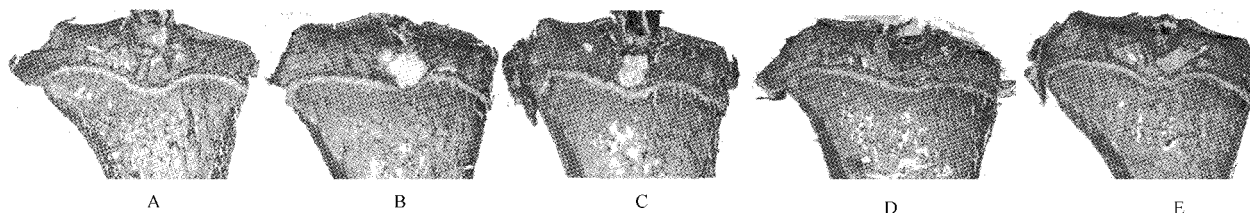


图1 肥胖模型各组大鼠胫骨上段5 μm 切片 Masson-Goldner Trichrome 染色(放大倍数为10 $\times$ 1.25) A:正常组, B:模型组, C:立普妥组, D:黄芪散高剂量组, E:黄芪散低剂量组

Fig.1 The 5 μm section of proximal tibial in obese rats with Masson-Goldner Trichrome staining (10 $\times$ 1.25).

A: Normal group, B: Model group, C: Lipitor group, D: Low-dose HQS group, E: High-dose HQS group

2.2 黄芪散对模型大鼠胫骨上段松质骨动态参数的影响

与正常组相比,立普妥组无明显差异;模型组大鼠胫骨上段松质骨骨荧光标记周长百分数(L.Pm%)、矿化沉积率(MAR)、骨表面新骨形成率(BFR/BS)、骨转换率(BFR/BV)均有所上升,新骨

的影响

与正常组相比,肥胖模型组大鼠胫骨上段骨小梁面积百分数(Tb.Ar%)($P<0.05$)、骨小梁宽度(Tb.Th)显著减少($P<0.05$),骨小梁数目(Tb.N)减少,骨小梁分离度(Tb.Sp)增加。与模型组相比,黄芪散低剂量组、高剂量组胫骨上段的Tb.Ar%、Tb.Th、Tb.N均增加,其中黄芪散高剂量组Tb.Ar%、Tb.Th均显著增加($P<0.01, P<0.05$)。见表1。

由各组动物胫骨松质骨的切片染色图可看出,模型组较正常组骨小梁稀疏,立普妥组和模型组骨小梁分布接近,黄芪散高低剂量组骨小梁略为密集,尤其高剂量组骨小梁间隙明显减小。见图1。

年形成率(BFR/TV)降低,但差异均不显著。黄芪散高低剂量组各项指标都低于正常组,且高剂量组骨转换率较正常组明显降低($P<0.01$)。与模型组相比,阳性药物组无显著差异;黄芪散高低剂量组各个动态学参数值均有所降低,特别是骨转换率都显著降低($P<0.01$)。见表2。

表2 各组大鼠上段松质骨动态学参数测定结果($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 2 Effect of HQS on PTM dynamic histomorphometric parameters of obese rats($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	标记周长百分数/%	骨矿化沉积率($\mu\text{m}/\text{d}$)	骨表面新骨形成率[$\mu\text{m}/(\text{d}\cdot 100)$]	骨转换率(%/年)	新骨年形成率(%/年)
正常组	22.165 $\pm$ 1.226	1.428 $\pm$ 0.439	11.527 $\pm$ 3.542	334.349 $\pm$ 115.510	57.417 $\pm$ 27.579
肥胖模型组	22.534 $\pm$ 7.512	1.482 $\pm$ 0.178	12.369 $\pm$ 4.767	446.782 $\pm$ 115.675	53.775 $\pm$ 23.742
立普妥组	23.989 $\pm$ 2.452	1.392 $\pm$ 0.189	14.312 $\pm$ 2.959	391.341 $\pm$ 69.233	55.091 $\pm$ 12.327
黄芪散低剂量组	20.314 $\pm$ 2.769	1.252 $\pm$ 0.146	9.269 $\pm$ 1.614	267.632 $\pm$ 50.143 ^{##}	46.438 $\pm$ 11.284
黄芪散高剂量组	19.604 $\pm$ 3.471	1.258 $\pm$ 0.232	9.095 $\pm$ 2.753	236.665 $\pm$ 67.095 ^{##}	46.927 $\pm$ 14.913

注:与模型组比较, ^{##} $P<0.01$ 。

绿色荧光为钙黄绿素的双荧光标志,可以看出,正常组胫骨组织荧光分布清晰明亮,荧光弥散分布较多,连续性好;模型组荧光强度较强,荧光分布连

续,荧光带较宽;黄芪散两个剂量组荧光强度都较模型组弱,荧光带较窄。立普妥组与正常组荧光强度及宽度差异不大。见图2。

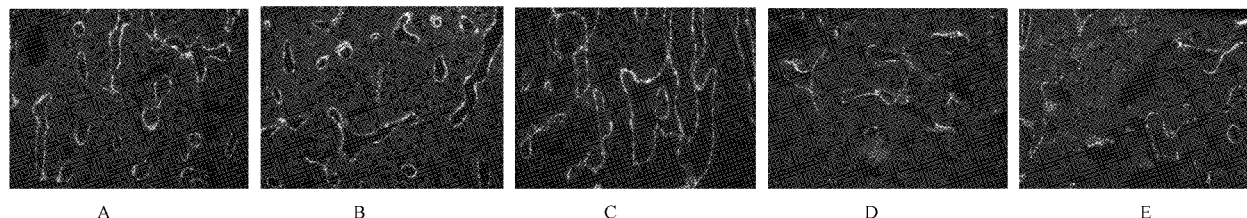


图2 大鼠胫骨上段45 μm 切片荧光标记(放大倍数为10) A:正常组,B:模型组,C:立普妥组,D:黄芪散高剂量组,E:黄芪散低剂量组

Fig.2 Fluorescent of 45 μm section of PTM in rats ($\times 10$). A: Normal group, B: Model group, C: Lipitor group, D: Low-dose HQS group, E: High-dose HQS group

2.3 对模型大鼠胫骨中段皮质骨静态参数的影响

与正常组相比,模型组大鼠胫骨皮质骨皮质面积百分数(Ct.Ar%)明显增加($P<0.05$),骨髓面积百分数(Ma.Ar%)明显减小($P<0.05$);立普妥组 Ct.

Ar%有所增加,但影响不显著;黄芪散低剂量组差异均不显著;黄芪散高剂量组 Ct.Ar%、骨外膜参数(PL.Pm)增加,但不显著, Ma.Ar%明显减少($P<0.05$)。见表3、图3。

表3 各组大鼠胫骨中段皮质骨静态学参数的测定结果($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 3 Effect of HQS on static histomorphometric parameters of TX in each group($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	皮质面积/ mm^2	皮质面积百分数/%	骨髓面积百分数/%	骨外膜面标记周长百分数/%
正常组	7.670 $\pm$ 0.796	82.801 $\pm$ 0.473	17.197 $\pm$ 0.476	33.162 $\pm$ 31.827
肥胖模型组	8.745 $\pm$ 0.888	86.270 $\pm$ 3.464 *	13.730 $\pm$ 3.465 *	34.020 $\pm$ 16.053
立普妥组	8.659 $\pm$ 0.592	84.508 $\pm$ 1.720	15.493 $\pm$ 1.720	45.029 $\pm$ 10.555
黄芪散低剂量组	8.338 $\pm$ 0.524	84.192 $\pm$ 1.364	15.810 $\pm$ 1.362	39.128 $\pm$ 23.621
黄芪散高剂量组	8.225 $\pm$ 0.925	85.954 $\pm$ 1.923	14.047 $\pm$ 1.924 *	44.761 $\pm$ 12.262

注:与正常组比较,* $P<0.05$ 。

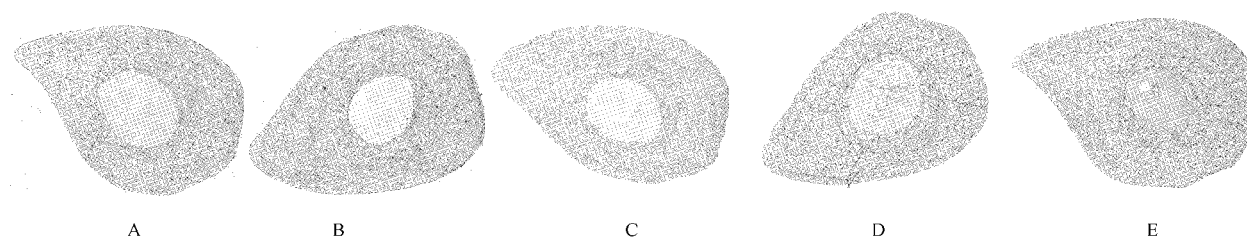


图3 大鼠胫骨中段45 μm 切片(放大倍数为10) A:正常组,B:模型组,C:立普妥组,D:黄芪散高剂量组,E:黄芪散低剂量组

Fig.3 The 45 μm section of TX in rats ($\times 10$). A: Normal group, B: Model group, C: Lipitor group, D: Low-dose HQS group, E: High-dose HQS group

2.4 黄芪散对模型大鼠胫骨中段皮质骨动态参数的影响

与正常组相比,其余各组骨外膜面骨矿化沉积率(P-MAR)有增加的趋势,以黄芪散高剂量组 P-

MAR 值最高;模型组骨外膜面骨形成率有所降低,其余各组均高于正常组,且以黄芪散高剂量组作用明显($P<0.01$)。见表4、图4。

表 4 各组大鼠胫骨中段皮质骨动态学参数的测定结果($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 4 Effect of HQS on the middle cortical dynamic histomorphometric parameters in each group($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	骨外膜面骨矿化沉积率/($\mu\text{m}/\text{d}$)	骨外膜面骨形成率/ [$\mu\text{m}/(\text{d}\cdot 100)$]	骨内膜面标记周长百分数/%
正常组	1.016 $\pm$ 1.066	55.641 $\pm$ 29.825	27.309 $\pm$ 5.329
肥胖模型组	1.332 $\pm$ 0.257	47.200 $\pm$ 25.071	32.304 $\pm$ 7.498
立普妥组	1.592 $\pm$ 0.280	72.866 $\pm$ 25.124	32.658 $\pm$ 6.475
黄芪散低剂量组	1.365 $\pm$ 0.651	61.900 $\pm$ 44.987	22.177 $\pm$ 8.378 [#]
黄芪散高剂量组	1.690 $\pm$ 0.151	75.422 $\pm$ 21.120 ^{**}	19.245 $\pm$ 4.300 ^{##}

注:与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$ 。

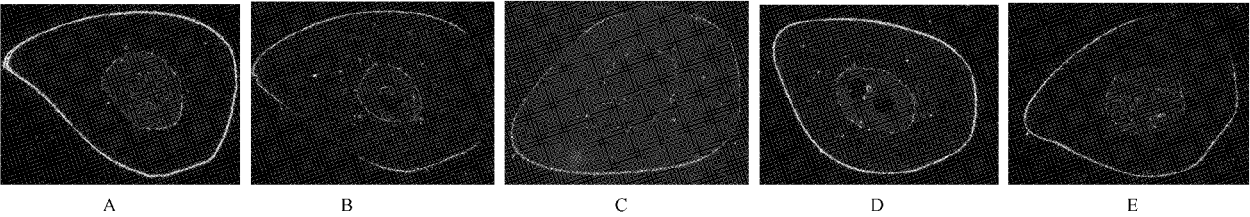


图 4 大鼠胫骨中段 45 μm 切片荧光标记(放大倍数为 10) A:正常组,B:模型组,C:立普妥组,D:黄芪散高剂量组,E:黄芪散低剂量组

Fig.4 Fluorescent of 45 μm section of TX in rats ($\times 10$). A: Normal group, B: Model group, C: Lipitor group, D: Low-dose HQS group, E: High-dose HQS group

3 讨论

Tb.Ar% 是反映骨量变化的重要指标,Tb.Th、Tb.N 和 Tb.Sp 则是反映显微镜下骨小梁结构的综合指标。由表 1 和图 1 的结果可见,以上参数值说明肥胖可致模型大鼠胫骨上段松质骨结构发生明显变化,呈现骨质疏松状态。黄芪散可抑制肥胖对大鼠胫骨上段松质骨产生骨丢失的影响。阳性药立普妥组较正常组与模型组结果均无显著性差异。由表 2 和图 2 结果可见,肥胖造模并未导致大鼠成骨细胞活性明显降低,胫骨上段骨形成较强,骨的更新转换率较快;黄芪散减弱了此作用,其影响可能因为抑制骨吸收的发生。由表 3 和图 3 结果可见,肥胖可能促进模型大鼠的胫骨中段皮质骨生长,且黄芪散高剂量组对胫骨中段皮质骨有促生长作用。由图 4 和表 4 结果可见,骨外膜面 3 个参数结果都表明肥胖对模型大鼠胫骨中段皮质骨的骨形成速度无显著影响,黄芪散可促进肥胖模型大鼠胫骨中段皮质骨横向生长,骨的横径生长增大增粗,这与促进皮质骨的骨外膜面骨形成可能有关。

本实验选取的大鼠均为雄性,未采用雌性动物,因考虑雌性鼠随生长期成熟期饲养时间的延长,会出现绝经期后骨质疏松等症状,会干扰实验考察肥胖对骨造成的影响。骨量的变化及骨的微观结构改变是常常考察骨影响的指标。骨量的丢失体现在松

质骨和皮质骨,本实验取材均为大鼠胫骨部位,而没有选用股骨或椎骨,可分别考察肥胖对胫骨上段松质骨和中段皮质骨的影响。

骨形态计量学的相关参数是由美国骨与矿物质研究学会制定的标准,包括静态参数和动态参数。静态参数可反映形态学观察到的骨组织结构变化,是关系骨量和骨结构变化的重要指标。骨小梁面积百分数、骨小梁宽度和骨小梁数目的数值越高则反映骨量越多,骨小梁分离度越大,代表骨小梁之间距离越大,骨越疏松。皮质骨骨面积越大,皮质骨髓面积越小,代表皮质骨横径生长增强。通常情况下,这些指标出现变化时才对动态参数进行进一步的测定和分析^[4]。从各项参数上可看出,黄芪散有利于肥胖状态下骨骼强度的维持或增强。

利用四环素或钙黄绿素能与骨特异结合并沉积在骨矿化前沿的特性,骨组织形态计量学中常采用活体四环素或钙黄绿素双标记法,在动物处死前 10 d 与 0 d 两次将荧光剂注射于动物皮下部位,从而标记在骨重建过程中,可动态地观察骨组织的变化,获取动态参数信息^[5],如骨矿化沉积率、骨表面新骨形成率、骨外膜面骨形成率、骨外膜面骨矿化沉积率等骨动力学指标,反映骨形成的情况。骨矿化沉积率越大表明骨小梁表面矿化层形成的速度越快,骨表面新骨形成率、骨转换率和新骨年形成率都是反映单位时间内单位骨面形成新的骨量的速度,以

365 d 为单位,骨组织面积、骨小梁周长、骨小梁面积和骨内外膜面积为不同骨面的矿化骨量。从各项参数上可以看出,肥胖导致模型动物骨转换率增加。黄芪散对胫骨松质骨和皮质骨的影响表现不同,松质骨为骨低转换状态,抑制骨吸收的发生。而皮质骨则表现为促进骨形成发生。

Wong 等^[6]用高脂伴高碳水化合物饮食诱导代谢综合征考察大鼠骨密度、骨组织形态计量学、骨重建指标的影响,发现代谢综合征(向心性肥胖、高血糖为指征)使得成骨细胞表面、类骨质表面、类骨质体积显著降低,骨吸收陷窝表面显著增加,骨小梁体积减少。代谢综合征会引起骨重建的不平衡,导致骨小梁结构的退化。本次实验也发现高脂饮食会导致模型大鼠骨小梁结构的退化,骨小梁数日减少,但对成骨细胞表面没有明显抑制作用。Lavet 等^[7]考察高脂高糖饮食对生长期(16周以前)和成熟期动物骨的影响,发现在生长期的肥胖大鼠,胫骨松质骨骨量会有所增加,而到成熟期的肥胖大鼠,松质骨骨量则减小;胫骨中段皮质骨的孔隙率在生长期会有所增加,在成熟期会增加更多。本次实验从购进大鼠到实验结束,大鼠从生长期成长到处死时的成熟期,最终高脂饮食致使大鼠肥胖,胫骨松质骨骨量减小,和文献报道结果一致;但胫骨中段皮质骨面积会增大,即使到成熟期也未见骨量的降低。孔隙率是指骨组织中为软组织所充填的“腔隙部分”^[8]。一般认为,孔隙率的增加,骨强度会随着下降。孔隙率区分的是骨的腔隙和固体基质,而矿化指标是反映骨的矿物质部分,对反映骨刚度有较大影响。本实验未测定孔隙率,测定了骨矿化沉积率,两者都是反映骨材料特性的参数。本实验发现高脂饮食造成的肥胖会引起胫骨松质骨的骨矿化沉积率提高,而黄芪散药物组都会降低其值,即减弱骨形成的发生。这与一般的预期值不同,但与黄芪散降低动物体重、体脂系数等影响还是有较大关联。前期实验^[9]笔者研究了黄芪散对骨髓间充质干细胞向脂肪细胞和成骨细胞分化的实验考察,随着药物浓度的增加,成骨方向的分化趋势会更明显,成脂方向的分化趋势会

减弱,这与本实验黄芪散明显的抑制脂肪生成作用一致,但对成骨细胞的骨形成作用没有表现明显的促进作用,有待进一步实验验证及机理研究。

4 结论

本实验结果可以看出,肥胖可导致大鼠胫骨松质骨骨转换加强,呈现成骨、破骨活跃,骨小梁变窄,骨小梁面积变小。而立普妥对肥胖引起的骨质疏松态没有改善作用。黄芪散可以通过抑制松质骨骨吸收和降低成骨作用,达到拮抗骨质疏松的作用。实验中也发现了黄芪散也可以促进皮质骨骨形成,达到了改善骨质量的治疗目的。因此,黄芪可能通过抑制骨吸收作用和促进骨外膜骨形成作用来抑制肥胖造成的骨质疏松。

【参 考 文 献】

- [1] Angelo F, Luca I, Maurizio R, et al. The obesity paradox and osteoporosis[J]. *Eat Weight Disord*, 2018, 23(3): 293-302.
- [2] 王芳,高英,李卫民,等.黄芪散对糖尿病大鼠股骨和胫骨的作用研究[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2016, 22(3): 278-287.
- [3] 王芳,陈珺,曾煦欣,等.黄芪散对糖皮质激素性骨质疏松大鼠股骨和胫骨的影响[J]. *中成药*, 2017, 39(6): 1109-1114.
- [4] 陈珺,张豪,杨国柱,等.骨形态计量学口前应用专家共识[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2014, 20(9): 1031-1054.
- [5] Vincent A, Fitzpatrick LA. Soy isoflavones: are they useful in menopause? [J]. *Mayo Clin Proc*, 2000, 75(11): 1174-1184.
- [6] Wong SK, Chin KY, Suhaimi FH, et al. Effects of metabolic syndrome on bone mineral density, histomorphometry and remodelling markers in male rats [J]. *PLoS One*, 2018, 13(2): e0192416.
- [7] Lavet JC, Martin A, Linossier MT, et al. Fat and sucrose intake induces obesity-related bone metabolism disturbances: Kinetic and reversibility studies in growing and adult rats[J]. *Bone Miner Res*, 2016, 31(1): 98-115.
- [8] 朱振安,戴克戎.骨的结构、成份和力学特性[J]. *医学生物学*, 1994, 9(3): 177-185.
- [9] 王芳,曾煦欣,毛建文,等.黄芪散含药血清对大鼠骨髓间充质干细胞增殖和分化功能的影响[J]. *中成药*, 2017, 39(7): 1478-1482.

(收稿日期: 2018-07-06;修回日期: 2018-07-19)